

PRETRATAMIENTOS DE LA CÁSCARA DE SEMILLA DE GIRASOL PARA SU UTILIZACIÓN COMO SUSTRATO DE PLANTAS

Postemsky P.D.¹, Lucaioli V.S.^{1,2}, Devalis R.¹, González Matute R.¹, Figlas N.D.^{1*}, Kiehr M.³, Cubitto M.A.^{1,5}, Marinangeli P.A.^{2,4}, Curvetto N.R.^{1,2}

¹ Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales (LBHCyM-CERZOS-CONICET- Universidad Nacional del Sur). Camino La Carrindanga Km 7 8000 Bahía Blanca. Tel 291 4861124. pablop@criba.edu.ar

² Laboratorio de Biotecnología Vegetal (LBV-CERZOS-CONICET-UNS)

³ Cátedra de Fitopatología (Departamento de Agronomía, UNS)

⁴ Cátedra de Cultivos Intensivos (Departamento de Agronomía, UNS)

⁵ Cátedra de Microbiología Industrial y de los Alimentos (Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS)

La cáscara de semilla de girasol es un residuo agro-industrial de impacto medioambiental negativo que suele estar contaminado con *Sclerotinia sclerotiorum*, lo que imposibilita su uso como enmienda orgánica o sustrato para plantas en macetas. El objetivo de este estudio fue evaluar si el tratamiento de ureólisis o los pretratamientos previos a la fermentación fúngica en estado sólido, i.e. solarización, pasteurización, compostado y desinfección química de la cáscara con clorito de sodio o Dazomet, podrían controlar el desarrollo de la enfermedad. Además se evaluó en co-cultivo el comportamiento de dos hongos lignocelulolíticos usados para fermentación en estado sólido frente a *S. sclerotiorum*. Excepto el pre-tratamiento con clorito de sodio, los demás fueron efectivos en la eliminación de la viabilidad de los esclerocios, considerándose la pasteurización el más sencillo. El *G. lucidum* inhibió, tanto el crecimiento del micelio de *S. sclerotiorum* como la germinación de los esclerocios. La ureólisis fue eficaz en varios de los tratamientos, siendo óptima la realizada en presencia de 3% de urea y 35% de humedad, y el compostado pudo eliminar la viabilidad de los esclerocios al primer mes y desintegrarlos completamente al segundo. Ambos se consideran efectivos para obtener un producto de aplicación como sustrato o enmienda.

Introducción

La cáscara de semilla de girasol (CSG) se genera como producto secundario del procesamiento de las semillas de girasol en la industria aceitera y representa el 18% del peso de los granos procesados. En cuanto a la producción anual de semilla de girasol, la cifra estimada para Argentina (tercera en el mundo) es de 600.000 toneladas de CSG (Casoni et al., 2015).

Esta biomasa se emplea como fuente de energía en las fábricas; sin embargo, en períodos de clima cálido se produce una menor demanda de energía y, en ese caso,

ganan importancia otras opciones de reciclado. De lo contrario, la CSG puede convertirse en un desecho de preocupación ambiental.

Una aplicación interesante para la CSG es su uso como enmienda de suelos o soporte para el crecimiento de plantas. Para sustratos, se pueden reemplazar porciones de turba, recurso natural no renovable de uso común, por esta biomasa (López-Castro et al., 2008; Postemsky et al., 2016). Por otra parte, la disposición final de estos sustratos en los suelos sería una práctica rentable de secuestro de carbono (Zeng, 2008).

Sin embargo, para su uso seguro en medios de cultivo de plantas, la CSG debe tratarse convenientemente debido a la presencia en ella de fitopatógenos, especialmente de *Sclerotinia sclerotiorum*. Este hongo es extremadamente polífago (Boland y Hall, 1994) y suele causar podredumbre y muerte de plantas en cultivos intensivos y extensivos, malezas y especies silvestres (enfermedad del moho blanco).

Además, para ajustarse a las propiedades fisicoquímicas estándar de los sustratos orgánicos utilizados en el cultivo de plantas en macetas, la CSG pre-tratada también puede requerir enmiendas para reducir la porosidad del aire, aumentar la retención de agua y reducir el contenido en minerales solubles (Postemsky y López Castro, 2016).

El presente estudio considera algunos tratamientos previos a la fermentación en estado sólido (FES), i.e. pasteurización, solarización, desinfección química (3,5-dimetil-1,3,5-tiadiazinano-2 thione, Dazomet o clorito de sodio) y compostaje, y el tratamiento de ureólisis, entre posibles alternativas para lograr dicha descontaminación.

La FES se refiere a la inoculación de hongos de la pudrición blanca (*Ganoderma lucidum* o *Pleurotus ostreatus*) en CSG hidratada y descontaminada, seguida del cultivo en condiciones axénicas, mesófilas y aerobias. El proceso puede ser terminado después de la biodegradación (ca. 20 días) o después de la biodegradación y la translocación de nutrientes durante la producción de basidiomas de hongos (> 40 días) (Postemsky y López Castro, 2016; Figlas et al., 2016).

La ureólisis es la producción de amoníaco en una reacción catalizada por la enzima ureasa de microorganismos nativos y que ocurre después de agregar urea al sustrato hidratado.

A concentraciones elevadas, el amoníaco disocia la matriz lignocelulósica, aumenta el contenido de nitrógeno y actúa como agente descontaminante (Zaman y Owen, 1995; Misra et al., 2006). Se evaluaron diferentes condiciones para la ureólisis de la CSG en su capacidad para descontaminar *S. sclerotiorum*, así como para aflojar la estructura de la matriz lignocelulósica de la CSG.

El compostaje de la CSG somete la biomasa a temperaturas superiores a 60° C y a su biodegradación por una diversidad de microorganismos que desinfectan el sustrato y logran niveles recomendados (<14) de C/N para sustratos orgánicos (González Matute et al., 2010; 2011). Hasta la fecha, no existe información sobre el efecto del compostaje de la CSG como tratamiento para eliminar la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum*.

El objetivo de este estudio fue comparar los tratamientos optimizados para la CSG en cuanto a su efectividad en la eliminación de la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum* para su posterior uso como sustrato para el crecimiento de plantas.

Materiales y métodos

1. Microorganismos

Los hongos de la pudrición blanca *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karst. (Cepa E47) y *Pleurotus ostreatus* (Jacq: P.) P. Kumm. (Cepa A01) se utilizaron sobre la base de su excelente adaptación para crecer en la cáscara de semilla de girasol (CSG). El patógeno vegetal *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary fue suministrado por el Laboratorio de Fitopatología del Dto. de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (Argentina). Todas las cepas están disponibles en el banco de germoplasma del Laboratorio de Hongos Comestibles y Medicinales del CERZOS-CONICET-UNS.

2. Tratamiento de los esclerocios

Las muestras que contenían los esclerocios dentro de una bolsa hecha de tela de malla (tul) se introdujeron en sustratos experimentales y, siguiendo el tratamiento correspondiente, se determinó la viabilidad de los esclerocios por su germinación en medio de agar con agua estéril. Antes de la siembra, los esclerocios se desinfectaron superficialmente en agua estéril, en etanol al 70% (1 min), en hipoclorito de sodio al 10% (1,5 min) y nuevamente en agua estéril. Las bolsas con los esclerocios se agregaron a la CSG antes de los pre-tratamientos.

3. Fermentación en estado sólido (FES) de la cáscara de semilla de girasol

3.1. Selección de especies de hongos de la pudrición blanca

Se realizó una confrontación *in vitro* de respuestas del micelio en co-cultivo de secciones miceliales de *G. lucidum* o *P. ostreatus* con *S. sclerotiorum* inoculadas en medio MYSA (extracto de malta, extracto de levadura, sacarosa, agar) (Postemsky et al., 2014). Se estudiaron las interacciones como la reacción en la zona de enfrentamiento, la tasa de crecimiento del micelio y la aparición de esclerocios durante un período de 35 días. Además, una prueba de inhibición de los esclerocios evaluó la germinación de muestras introducidas en colonias de 15 días de edad de *P. ostreatus* o *G. lucidum*. En vista de los resultados obtenidos, el *G. lucidum* se seleccionó para usar como microorganismo de biotransformación.

3.2. FES por *G. lucidum*

El inóculo de *G. lucidum* (micelio crecido sobre grano de trigo -*Triticum durum*-esterilizado) consistió en un 8% del grano distribuido completamente en la biomasa de CSG pre-tratada de diferentes formas, de acuerdo a lo especificado en la Tabla 2. El inóculo en base a granos consiste en micelio dicarionte en fase de crecimiento lineal sobre granos de trigo previamente esterilizados que contenían enmiendas de sales de calcio para la corrección de pH, evitar la formación de grumos y limitar posibles excesos de humedad. Las condiciones de fermentación fueron 20°C y 60% de

humedad relativa y oscuridad. Se realizaron microperforaciones sobre la superficie de los contenedores (bolsas de plástico o láminas plásticas colocadas sobre bandejas) para permitir el intercambio de gases.

4. Ureólisis

La ureólisis de la CSG se optimizó en frascos de vidrio de 300 mL. Los esclerocios se introdujeron en los frascos como se describe en 2. Se estudió la evolución del pH, la descontaminación de esclerocios de *S. sclerotiorum*, la descontaminación de microorganismos transportados por el aire o contenidos en la CSG y el contenido de urea residual. Los microorganismos transportados por el aire o presentes en la CSG se inspeccionaron después de la incubación (7 días a $24 \pm 2^\circ\text{C}$) en diluciones (2 g de muestra en 15 ml de agua estéril, hasta 10-12 diluciones, $n = 3$) en medio de agar (5 g de peptona, 3 g extracto de carne y 15 g de agar/L, pH 7). La urea se determinó colorimétricamente (Wiener Lab Kit, Argentina) en diluciones de las muestras de 2 g en 20 mL de agua.

En la búsqueda de la condición óptima de ureólisis se utilizaron tres configuraciones: 1) 96% de CSG, 3% de urea en peso seco y 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5% de harina de soja (aporte de actividad ureasa), con 35% de contenido de agua; 2) 100% de CSG y 0, 1,5, 3 y 6% de urea, con 35% de contenido de agua; y 3) 97% de CSG, 3% de urea y 35, 45 y 55% de contenido de agua.

5. Compostaje

La metodología adoptada fue la de González Matute et al. (2010), la que permitió formular el sustrato con una porosidad de aire apropiada, una concentración inicial de N de 1,15% y una relación C/N de 37,5, realizada en un tanque de plástico de 600 L. El sustrato tuvo, sobre la base de peso seco, los siguientes componentes: 11,06% de CSG, 11,06% de paja de trigo (*Triticum aestivum* L., 5 cm de longitud promedio), 11,06% de sustrato residual de *Pleurotus* spp., 1,67% de salvado de arroz (*Oryza sativa*) y 0,15% de urea; y se preparó con un contenido de agua del 65%. El material de compost se volteó a los días 4, 8 y 12. La descontaminación de los esclerocios de *S. sclerotiorum* se evaluó como se describe en el inciso 2, colocados en tres niveles diferentes (30, 50 y 70 cm desde el fondo del compost y a 20 cm desde el borde) a los 30 y 60 días.

6. Desinfección química

Para la desinfección química, se emplearon un desinfectante de uso comercial, el Dazomet (3,5-Dimetil-1,3,5-tiadiazinan-2-tiona) y una variante de Cloro en un estado oxidativo moderado, el clorito de sodio. Las unidades experimentales ($n=3$) conteniendo 0,34 kg de sustrato fueron embebidas con soluciones de Dazomet (300 mg/L) o bien de clorito de sodio activado (1200 mg ClO_2/L) para alcanzar un contenido final de humedad en el sustrato del 60%. Para activar la solución de clorito de sodio, y así producir el gas oxidante ClO_2 , una solución de ClO_2Na (28%) fue mezclada en partes iguales con otra de HCl (4%) 5 minutos antes de su empleo. Esta dosis de ClO_2 es la recomendada para desinfección superficial de vegetales y carnes en la industria alimentaria (Rao, 2007). En el caso del Dazomet también se evaluó la mezcla del

producto seco con el sustrato (seco) y luego se agregó el agua en cantidad suficiente para alcanzar una humedad final del 60%.

Los esclerocios fueron sometidos junto con la cáscara al proceso de desinfección y fueron evaluados al día 7 desde el inicio del tratamiento.

7. Análisis de los resultados

Los resultados fueron analizados con Anova simple y las medias fueron diferenciadas con el test de Tukey ($\alpha=0.05$). Los datos fueron analizados empleando el software Infostat (Di Rienzo et al., 2011).

Resultados y discusión

1. FES de la cáscara de semilla de girasol

1.1 Selección de especies

Los resultados de la confrontación de micelios y las pruebas de inhibición de esclerocios se muestran en la Tabla 1 y las imágenes representativas se muestran en la Fig. 1. Al comparar *G. lucidum* y *P. ostreatus*, la primera especie presentó los mejores rasgos de inhibición frente a *S. sclerotiorum*, como se muestra por la presencia de pigmentación en la zona de confrontación, una clara inhibición del crecimiento del micelio. Los esclerocios se formaron parcialmente en la zona patógena, mientras que fueron totalmente inhibidos en la zona del micelio del hongo de pudrición blanca.

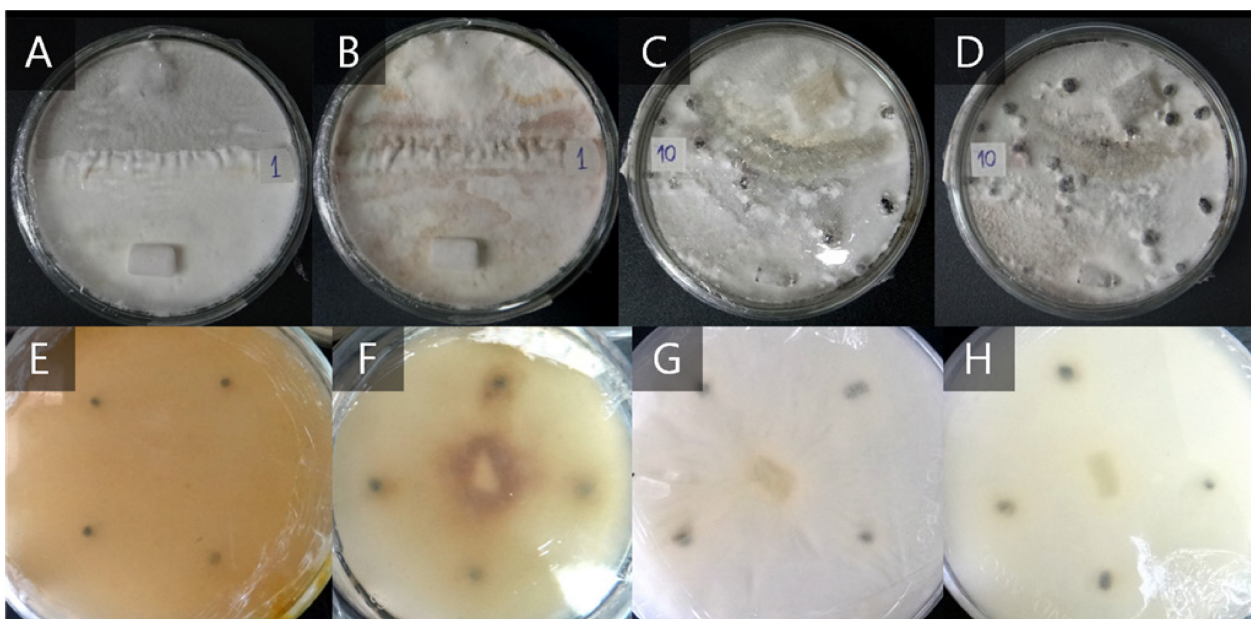
Por otro lado, en el test de inhibición de esclerocios, ambas especies inhibieron la germinación del patógeno, siendo *G. lucidum* la que siempre presentó pigmentación asociada a defensa, mientras que en el caso de *P. ostreatus* ello ocurrió ocasionalmente.

G. lucidum es un productor bien conocido de metabolitos antimicrobianos (Gao et al, 2003) y, según nuestro conocimiento, las interacciones con *S. sclerotiorum* no se han informado previamente. Vale la pena notar, que la presencia de pigmentos está asociada con el modo de acción de defensa que suele aparecer (Curvetto et al., 2004; Postemsky et al., 2014).

Tabla 1. Pruebas de co-cultivo de *Ganoderma lucidum* o *Pleurotus ostreatus* contra *Sclerotinia sclerotiorum*. La prueba de confrontación de micelios consistió en la inoculación de micelios vegetativos y el registro de los rasgos morfológicos durante 35 días (n = 10). La prueba de inhibición de los esclerocios consistió en el estudio de la reacción de los esclerocios después de su siembra en cultivos de 15 días de edad de *G. lucidum* o *P. ostreatus*.

	<i>Test de confrontación de micelios</i>				<i>Test de inhibición de esclerocios</i>	
Especies	Pigmentos en la zona de contacto	Demora en el crecimiento de <i>S. sclerotiorum</i>	Inhibición del desarrollo de esclerocios en la zona patógena	Inhibición del desarrollo de esclerocios en la zona del hongo de la pudrición blanca	Reacción de pigmentos asociados a defensa	Inhibición de la germinación de esclerocios
<i>G. lucidum</i>	Sí	Sí	Parcial	Sí	Sí	Sí
<i>P. ostreatus</i>	No	No	No	No	Ocasional	Sí

Figura 1. Imágenes representativas de los ensayos de co-cultivo de *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus* contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Los test de confrontación de micelio muestran los micelios de *G. lucidum* o *P. ostreatus* creciendo en la misma caja con *S. sclerotiorum* (A, B, C, D). *G. lucidum* a los 12 días (A) y a los 35 días (B). Obsérvese el micelio pigmentado en la zona de confrontación y la ausencia de micelios y esclerocios. *P. ostreatus* no mostró micelio pigmentado y *S. sclerotiorum* creció sobre él produciendo esclerocios después de 12 días (C) que aumentaron en número hacia el día 35 (D). En la parte inferior se observan imágenes de la prueba de inhibición de esclerocios. Las colonias de *G. lucidum* (E, F) y *P. ostreatus* (G, H) fueron inoculadas con cuatro esclerocios. Obsérvese la mayor pigmentación en *G. lucidum* (F) en comparación con las placas de *P. ostreatus* (H) al día 25.



1.2. Pre-tratamientos para FES

Los pre-tratamientos físicos en ciertas condiciones que se describen en la Tabla 2 fueron eficaces para descontaminar *S. sclerotiorum* así como también para permitir un buen crecimiento de *G. lucidum*. Aquéllos incluyen la pasteurización por vapor durante 2 h, el autoclavado a 121°C durante 30 min y la solarización ((exposición al sol, en estación de primavera por 4-6 horas diarias durante un periodo de 1 a 10 días)). Por otro lado, la desinfección química con Dazomet fue efectiva para descontaminar *S. sclerotiorum*; sin embargo, inhibió el crecimiento de *G. lucidum* presumiblemente por un efecto residual de las sustancias en el sustrato.

El compostado pudo eliminar la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum* al primer mes y desintegrarlos completamente al segundo en todos los niveles del sustrato. Considerando el escalado del proceso, la pasteurización durante 2 h sería un pre-tratamiento más conveniente que el autoclavado o la solarización, principalmente debido a la menor demanda de operaciones manuales y menores costos de los equipos.

Tabla 2. Pre-tratamientos de la CSG para la descontaminación de *Sclerotinia sclerotiorum* y para la fermentación en estado sólido por *Ganoderma lucidum*.

Se describen los detalles de los pre-tratamientos. Algunos ensayos incluyeron diferentes condiciones experimentales que se detallan.

La eficacia para descontaminar los esclerocios de *S. sclerotiorum* introducidos experimentalmente se presenta como "No eficaz" cuando más del 50% de los esclerocios sobrevivieron, "Eficaz" cuando no sobrevivieron esclerocios y "Parcialmente eficaz" cuando más de un esclerocio y menos del 50% sobrevivió.

Pre-tratamiento ^a	Descripción (número de esclerocios-bolsa)	Condición	Eficiencia en la descontaminación de esclerocios ^b
Pasteurización con vapor	1 ue ^a 34 kg sustrato 3 esclerocios-bolsa	80-90°C, 30 min	No eficaz
		80-90°C, 1 h	Parcialmente eficaz
		80-90°C, 2 h	Eficaz
Autoclavado	10 ue 0,5 kg sustrato 1 esclerocio-bolsa	121°C, 30 min	Eficaz
		121°C, 1 h	Eficaz
Solarización	4 ue 0,34 kg sustrato 1 esclerocio-bolsa	Exposición a la luz solar 4 h (1 día)	Parcialmente eficaz
		Exposición a la luz solar 12 h (2 días)	No eficaz
		Exposición a la luz solar 36 h (5 días)	Eficaz
		Exposición a la luz solar 72 h	Eficaz

		(10 días)	
<i>Dazomet</i> (3,5-Dimetil-1,3,5-tiadiazinan-2-tiona)	2 ue 0,34 kg sustrato 3 esclerocios-bolsa	Distribución homogénea, 7 días	Eficaz
		Disuelto en agua, 7 días	Eficaz
Clorito de sodio (NaClO ₂)	1 ue 0,34 kg sustrato 3 esclerocios-bolsa	Disuelto en agua, 7 días	Parcialmente eficaz
Compostaje	1 ue 150 k sustrato 3 esclerocios-bolsa en 3 niveles	30 días compostado	Eficaz
		60 días compostado	Eficaz

^a Las unidades experimentales (ue) consistieron en CSG humedecida con un 65% de agua y empaquetada a una densidad de 0,5 g/mL.

2. Ureólisis

El proceso de ureólisis se ve afectado principalmente por la humedad y la temperatura, que, según el período de tiempo, permite la proliferación de bacterias ureolíticas responsables de perjudicar el crecimiento de microbios indeseables (Zaman y Owen, 1995; Misra et al., 2006).

La CSG tratada con 1,5 - 6% de urea aumentó el pH de 7,6 a 8,9 - 9 en los primeros 2 días. Sin embargo, en el mismo período, un control realizado con CSG esterilizada por autoclavado (121°C, 2 hs) y en presencia de urea 3% elevó el pH sólo de 6,5 a 7, lo que indica una participación activa de microorganismos en el proceso de ureólisis o la inactivación de enzimas nativas de la CSG.

El amoníaco es el principal responsable de la elevación del pH y tiene una acción inhibitoria del desarrollo de hongos (Sundstol, 1988), que parece ser mayor que sobre las bacterias, logrando así una estabilidad del material húmedo que puede mantenerse durante uno a tres meses, dependiendo de las condiciones de tratamiento (Cordesse, 1987). La CSG podría tener una alta carga microbiana inicial, ya que 1% de urea y 32% de contenido de agua fue eficiente para descontaminar otros sustratos (Knapp et al., 1975).

Después de 30 días, se detectaron hongos hasta la dilución 10^{-12} cuando se añadió al sustrato 1,5% de harina de soja, pero no se encontró crecimiento en la dilución 10^{-12} de la mezcla sin harina de soja, como si la actividad ureásica de la CSG sola fuera suficiente para una incubación a largo plazo y la ausencia de harina de soja descartara un factor contaminante adicional.

Cuando se evaluó la concentración de urea, no se encontró ningún crecimiento contaminante después de 30 días en la dilución 10^{-12} tanto con 3% como con 6% de urea, por lo que la adición de urea al 3% sería suficiente para la descontaminación de CSG.

Con respecto al contenido de agua, sólo la adición de 35% agua podría prevenir la contaminación de la CSG. Mayores concentraciones de agua mostraron contaminación en incubaciones a largo plazo.

Se encontró que la harina de soja no es esencial para la degradación de la urea y la producción concomitante de NH_3 . En presencia de 3% de urea, la actividad ureásica de la propia CSG fue suficiente para degradarla. Sin embargo, los aumentos en el suplemento de harina de soja mejoraron la degradación de la urea y aumentaron el amoníaco residual en la CSG tratada (Tabla 3).

Una concentración de urea en la CSG del 1,5% conduce a una producción insuficiente de amoníaco para su descontaminación a largo plazo.

Después de 30 días de incubación, la urea se degradó casi hasta 0,09 g/75 g de CSG cuando la cáscara se trató con urea al 3%. A medida que la concentración de urea aumenta en el sustrato, la urea residual también se incrementa, lo mismo que la producción de NH_3 , que previene cualquier contaminación (Tabla 3).

A pesar de que el nivel de urea de 1,5% elevó el pH a 9, dicho nivel de urea no previno la contaminación del sustrato con mohos, aunque sí mató a los esclerocios de *S. sclerotiorum* (Tabla 4). Además, el agregado de 45 y 55% de agua a la CSG en presencia de 3% de urea no pudo evitar la contaminación del sustrato, concluyendo que el agregado de 3% de urea sin harina de soja y 35% de agua fue la mejor formulación para obtener un material descontaminado.

Tabla 3. Concentración de urea (g/75g CSG en peso seco) y de NH_3 (g/L) después de 7 y 30 días de incubación de la CSG con 3% de urea en ausencia/presencia de harina de soja y 35% de agua a $24 \pm 2^\circ\text{C}$. C2: CSG con 3% de urea y 35% de agua esterilizada durante 2 horas en autoclave.

	7días		30 días	
	Urea g/75g CSG	NH_3 g/L	Urea g/75g CSG	NH_3 g/L
Harina soja % (Urea 3%)				
0	0,36	0,46	0,09	0,49
0,25	0,46	0,43	<0,00	0,90
0,5	0,43	0,43	<0,00	0,90
1,0	0,40	0,41	<0,00	0,82
1,5	0,30	0,47	<0,00	0,99
C2	1,24	0,19	nd ²	nd

Urea % (Harina soja 0%)				
0	0	0	Contam	Contam
1,5	0,067	0,26	Contam.	Contam.
3	0,11	0,55	-	0,68
6	0,76	1,33	0,13	2,41

nd: No determinado

Tabla 4. Habilidad del tratamiento ureolítico para matar los esclerocios de *S. sclerotiorum*.

Urea % (Harina soja 0%)	N° Esclerocios iniciales	N° Esclerocios al día 25
0	20	15
1,5	20	0
3	20	0
6	20	0

Conclusiones

Este trabajo evaluó la factibilidad de emplear diferentes pre-tratamientos con la finalidad de permitir el uso de la cáscara de girasol como biofertilizante para el cultivo de plantas, eliminando la principal fuente de fitopatogenicidad por *Sclerotinia sclerotiorum* presente en la misma. El enfoque experimental consistió en la introducción de esclerocios en sustratos formulados a base de cáscara de girasol, los que luego fueron expuestos a tratamientos térmicos, biológicos y químicos.

Los pre-tratamientos evaluados, excepto el químico con clorito de sodio, fueron efectivos en suprimir el crecimiento de *S. sclerotiorum* desde esclerocios presentes en la CSG. Se considera que la pasteurización sería el más conveniente desde el punto de vista práctico y económico.

El hongo lignocelulolítico *G. lucidum* mostró una actividad inhibitoria, tanto del crecimiento del micelio de *S. sclerotiorum* como de la germinación de los esclerocios, por lo que si algún esclerocio sobreviviera al pre-tratamiento realizado previo a la FES, *G. lucidum* podría inhibir su desarrollo, y así el producto obtenido sería seguro para su uso como sustrato o enmienda. La ureólisis fue eficaz en varios de los tratamientos, siendo óptima cuando se realizó en presencia de 3% de urea y 35% de humedad; y el compostado pudo eliminar la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum* al primer mes y desintegrarlos completamente al segundo. Considerando que también producirían una degradación parcial de la matriz lignocelulósica de la CSG, ambos

serían tratamientos efectivos por sí solos para obtener un producto de aplicación directa como sustrato o enmienda para el cultivo vegetal.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración del Dr. Diego Zappacosta en la realización de los bioensayos con *S. sclerotiorum*, del Lic. Pablo Vuano y del Sr. Sergio Tobón en la realización de la FES y de la solarización de la cáscara de girasol. Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Proyecto de Unidades Ejecutoras CERZOS 2017), Universidad Nacional del Sur (UNS, PGI-MAYDS), Banco Interamericano de Desarrollo y Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva (subsidios BID PICT 2014-2414, BID PICT 2016-2095).

Referencias

Boland, G.J. y R. Hall (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16: 93-108.

Casoni, A. I., Bidegain, M., Cubitto, M. A., Curvetto, N., & Volpe, M. A. (2015). Pyrolysis of sunflower seed hulls for obtaining bio-oils. *Bioresource technology*, 177: 406-409.

Cordesse, R. (1987). Utilisation des pailles traitées ou non: 6. Technologie du traitement des pailles. In 16. Journées du Grenier de Theix. Les fourrages secs: recolte, traitement, utilisation. Ceyrat (France).

Curvetto, N., Figlas, D., González, M., & Delmastro, S. (2004). Cáscaras de semilla de girasol. *Mushroom Growers' Handbook*, 2(1): 127-133.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2011). InfoStat v2011. InfoStat Group, College of Agricultural Sciences, National University of Córdoba: Argentina.

Figlas, N.D., González Matute, R. and Curvetto, N. (2016). Sunflower seed hull: its value as a broad mushroom substrate. *Annals of Food Processing and Preservation* 1(1): 1002, 1-7.

Gao, Y., Zhou, S., Huang, M., & Xu, A. (2003). Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (Aphyllphoromycetideae): a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5(3).

González Matute, R., Figlas, D. y N. Curvetto (2010). Sunflower seed hull based compost for *Agaricus blazei* Murrill cultivation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64(8): 742-747.

González Matute, R., Figlas, D. y N. Curvetto (2011). *Agaricus blazei* production on non-composted substrates based on sunflower seed hulls and spent oyster mushroom

substrate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27(6): 1331-1339. DOI: 10.1007/s11274-010-0582-5.

Knapp, W. R., Holt, D. A., & Lechtenberg, V. L. (1975). Hay preservation and quality improvement by anhydrous ammonia treatment. *Agronomy Journal*, 67(6): 766-769.

López-Castro, R. I., Delmastro, S., & Curvetto, N. R. (2008). Spent oyster mushroom substrate in a mix with organic soil for plant pot cultivation. *Micol Appl Int*, 20(1): 17-26.

Misra, A. K., Mehra, U. R., & Dass, R. S. (2006). Assessment of feeding urea ammoniated wheat straw on growth performance, feed intake and nutrient utilization in crossbred calves reared under stall-fed or grazing condition. *Cellulose*, 46(48.28): 22-77.

Postemsky, P. D., Delmastro, S. E., & Curvetto, N. R. (2014). Effect of edible oils and Cu (II) on the biodegradation of rice by-products by *Ganoderma lucidum* mushroom. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 93: 25-32.

Postemsky, P. D., & López-Castro, R. I. (2016). Aplicaciones de sustrato residual del cultivo de hongos en la producción hortícola. *Horticultura Argentina* 35 (86): 44-63.

Postemsky, P. D., Marinangeli, P. A., & Curvetto, N. R. (2016). Recycling of residual substrate from *Ganoderma lucidum* mushroom cultivation as biodegradable containers for horticultural seedlings. *Scientia Horticulturae*, 201: 329-337.

Rao M. (2007) Acidified sodium chlorite. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/68/Acidified Sodium Chlorite.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/68/Acidified_Sodium_Chlorite.pdf)

Sundstol, F. (1988). Improvement of poor quality forages and roughages. *Feed science*/edited by ER Orskov.

Zaman, M. S., & Owen, E. (1995). The effect of calcium hydroxide and urea treatment of barley straw on chemical composition and digestibility *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 51(1): 165-171.

Zeng, N. (2008). Carbon sequestration via wood burial. *Carbon Balance and Management*, 3(1): 1. DOI: 10.1186/1750-0680-3-1